

Strokovni prispevek/Professional article

PREVALENCA HEPATITISOV A IN B PRI KRVODAJALCIH Z ANAMNEZO ZLATENICE

PREVALENCE OF HEPATITIS A IN B AMONG BLOOD DONORS WITH HISTORY OF JAUNDICE

Božislava Majcen-Vivod, Vera Urlep-Šalinović

Oddelek za transfuziologijo in imunohematologijo, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

Prispelo 2003-07-02, sprejeto 2004-01-21; ZDRAV VESTN 2004; 73: 227-30

Ključne besede: krvodajalci; vprašalnik; zlatenica; hepatitis A, B

Izvleček – Izhodišča. Preprečitev prenosa nalezljivih bolezni s krvjo predstavlja pomembno področje v transfuzijski medicini. V Sloveniji testiramo kri na sifilis (*anti-treponema pallidum*) od leta 1960, hepatitis B (antigen virusa hepatitisa B – HBsAg) od leta 1970, aids (protitelesa proti virusu HIV – anti-HIV) od leta 1986 in hepatitis C (protitelesa proti virusu hepatitisa C – anti-HCV) od leta 1993.

Po uvedbi vprašalnika leta 1994 na Oddelku za transfuziologijo in imunohematologijo v SB Maribor smo za vse krvodajalce, ki so na vprašalniku navedli, da so preboleli zlatenico, uvedli dodatna testiranja na protitelesa proti antigenu sredice virusa hepatitisa B (anti-HBc), protitelesa proti površinskeemu antigenu virusa hepatitisa B (anti-HBs) in na protitelesa proti hepatitisu A (anti-HAV).

V prispevku prikazujemo, koliko oseb z anamnezo zlatenice je prebolelo hepatitis A ali B, in koliko oseb po prebolelem hepatitisu B nima ustreznih zaščitnih protiteles anti-HBs.

Metode. Podatke smo dobili iz računalniškega sistema DATEC, ki ga uporabljamo na transfuzijskih oddelkih po Sloveniji.

Rezultati. Med 43.000 krvodajalci v letih 1994 do 2002 jih je 764 (1,78%) označilo na vprašalniku podatek, da so preboleli zlatenico. Med njimi jih je 666 (87,2%) imelo protitelesa proti hepatitisu A ali B. Protitelesa proti hepatitisu A smo odkrili pri 654 (85,6%) dajalcih in pri 98 (12,8%) smo odkrili protitelesa proti hepatitisu B. Med slednjimi 98 dajalci 30 (30,6%) oseb ni imelo protiteles anti-HBs, temveč le protitelo anti-HBc. 86 (11%) krvodajalcev je imelo hkrati protitelesa proti hepatitisu A in B.

Zaključki. Z dodatnim testiranjem krvodajalcev, ki so preboleli zlatenico, smo tako odkrili 30 (0,069%) HBsAg negativnih anti-HBc pozitivnih krvodajalcev brez ustreznih protiteles anti-HBs.

Key words: blood donors; questionnaire; jaundice; hepatitis A, B

Abstract – Background. Preventing transmission of infectious disease through blood transfusion presents one of the greatest challenges of transfusion medicine. All donations are monitored for syphilis since 1960, hepatitis B (HBsAg) since 1970, aids (anti HIV) since 1986 and hepatitis C (anti-HCV) since 1993.

After introducing a donor questionnaire in 1994, we started to test all donors with a history of hepatitis for anti-HBc, anti-HBs antibodies, and antibodies against hepatitis A (anti-HAV).

Methods. Data on donors were found in the Datec computer program which is commonly used in all transfusion institutions in Slovenia.

Results. Among 43,000 registered donors, 764 (1.78%) had a history of hepatitis. After testing, we found 666 of them positive (87.2%) for hepatitis A or B antibodies. 654 (85.6%) donors had hepatitis A antibodies and 98 (12.8%) had anti-HBc antibodies. Among these 98, 30 donors (30.6%) had no anti-HBs antibodies. 86 donors (11%) had antibodies against hepatitis A and B.

Conclusions. After additional testing of donors for hepatitis B antibodies, we excluded 30 (0.069%) HBsAg negative, anti-HBc positive and anti-HBs negative donors with history of hepatitis.

Uvod

Krvodajalci so lahko samo zdrave osebe med 18. in 65. letom starosti (1). Vsak dajalec pred odvzemom krvi izpolni vpra-

šalnik o zdravstvenem stanju in je pregledan pri zdravniku. Na oddelku za transfuziologijo in imunohematologijo v SB Maribor smo vprašalnik uvedli leta 1994. Vprašanja se nanašajo na prebolele bolezni, na način življenja in razvade krvo-

dajalca. Krvodajalce po prebolelih boleznih ali s tveganim vedenjem odklonimo za določen čas ali pa trajno. Tako hkrati varujemo zdravje krvodajalcev in tudi zdravje prejemnikov krvi.

Odvzeto kri v Sloveniji testiramo na določene označevalce okužb: na sifilis (TPHA – treponema pallidum hemaglutinacijski test ali z encimsko imunskimi testi – EIA) od leta 1960, na površinski antigen virusa hepatitisa B (HBsAg) od leta 1970, na protitelesa proti virusu aidsa (anti-HIV) od leta 1986 in na protitelesa proti virusu hepatitisa C (anti-HCV) od leta 1993, vse z encimsko imunskimi testi (EIA). Odkrivanje virusnih nukleinskih kislin (NAT) je v Sloveniji uvedeno le za virus hepatitisa C marca leta 2000 (2, 3).

Nekatere države, med njimi ZDA, testirajo rutinsko pri vseh krvodajalcih še protitelesa proti antigenu sredice virusa hepatitisa B (anti-HBc), določajo alanin aminotransferazo (ALT) in glede na krajevne okoliščine izvajajo še druge preiskave (4).

Hepatitis B

Virus hepatitisa B uvrščamo v skupino hepadna virusov. Virus vsebuje deoksiribonukleinsko kislino (DNK) in ima dvojno vijačnico premera 42 nm (4, 5). Mnogo ljudi, ki zbolijo za hepatitisom B, ima tiho okužbo brez jasnih simptomov ali fizikalnih znakov bolezni. Inkubacijska doba znaša povprečno 90 dni (30–180 dni) (5). Po izračunih je 50% svetovne populacije prišlo v stik z virusom hepatitisa B in okrog 10% teh (350 milijonov) je nosilcev HBsAg. Pri nosilcih obstaja veliko tveganje za razvoj ciroze in razvoj hepatocelularnega karcinoma. Letno zaradi kroničnega hepatitisa B umre 1 milijon ljudi (5).

Prenos hepatitisa B je možen tudi ob transfuziji zaradi laboratorijske napake pri testiranju ali kadar gre za nosilca HBsAg, kjer z EIA testi HBsAg nismo zaznali. Možni razlogi so pre nizka vsebnost antigena, da bi ga zaznale najbolj občutljive metode, predvsem v fazi nastajanja ali izzvenenjanja antigenemije, ter genetske variante virusa HBV, ki jih nekateri testi ne zaznajo (2, 4, 5).

Zato mora biti vsaka enota krvi testirana z licenčnim visoko občutljivim testom za HBsAg. Občutljivost encimsko imunskih testov (EIA) mora doseči 0,5 ng HBsAg/ml seruma (6). V Sloveniji odklonimo dajalce, ki so v zadnjih 5 letih preboleli zlatenico. Možnost okužbe s krvjo je torej zelo majhna.

Prejemnik se lahko okuži, kadar je bil odvzem krvi v obdobju diagnostičnega okna. Diagnostično okno je obdobje od izpostavitve virusu do takrat, ko s testi dokažemo prisotnost označevalcev okužbe. Diagnostično okno za hepatitis B znaša 59 dni pri uporabi testov EIA 3. generacije (2). Serološki kazalci za okužbo s hepatitisom B so HBsAg (antigen virusa hepatitisa B), HBeAg (e antigen virusa hepatitisa B), anti-HBc (protitelo proti antigenu jedra), anti-HBs (protitelo proti površinskemu antigenu) in anti-HBe (protitelo proti e antigenu) in jih prikazujemo v razpredelnici 1 (7).

V študijah so dokazovali, da je anti-HBs zaščitno protitelo izginilo več let po akutni okužbi. Ni pojasnjeno, ali je imunost v tem primeru še zadovoljiva (7).

V razpredelnici je prikazano, da se najprej pojavi HBsAg. Sočasno pa pri okuženih osebi dokažemo po navadi še HBeAg in anti-HBc protitelo. Kronični nosilci nimajo protiteles anti-HBs, medtem ko ima oseba po ozdravitvi po navadi anti-HBc IgG, anti HBe in anti-HBs protitelo.

V Veliki Britaniji, kjer je obvezno določati le HBsAg, so v raziskavi, opravljeni med letoma 1991 in 1993, izračunali, da je tveganje za prenos hepatitisa B s krvjo 1 na 63.000 enot krvi (9).

V ZDA je tveganje za prenos hepatitisa B 1 na 200.000 enot krvi. Tam testirajo kri na HBsAg in protitelo anti-HBc z encimsko imunsko metodo (4, 10).

Razpr. 1. Serološki testi v diagnostiki virusnega hepatitisa B (7).

Table 1. Serological tests used to diagnose viral hepatitis B.

HBsAg	Anti-HBc IgG + IgM	Anti-HBc IgM	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Interpretacija Interpretation
+	±	±	-	±	-	Zgodnji akutni HB ali kronični nosilec Early acute hepatitis B or chronic carrier
+	+	+	-	+	-	Akutni HB Acute hepatitis B
-	+	+	-	±	±	Obdobje okrevanja ali možni kronični nosilec Recover period or possible chronic carrier
+	+	-	-	±	±	Kronični nosilec Chronic carrier
-	+	-	+	-	±	Ozdravljen Cured
-	-	-	+	-	-	Po cepljenju After vaccination
-	+	-	-	-	-	Diagnostično okno? Lažna pozitivnost? »Window period« False positivity?

V Evropi in tudi v Sloveniji ni bilo nikoli uvedeno dodatno testiranje krvodajalcev na anti-HBc zaradi previsokih stroškov in tudi izgube dajalcev (7, 11).

Po podatkih Rdečega križa iz Nemčije je tveganje za prenos hepatitisa B po uvedbi testiranja z odkrivanjem nukleinskih kislin (NAT) na HBV 1 na 430.854 (12).

Hepatitis A

Virus hepatitisa A (HAV) je virus iz družine picorna virusov. Vsebuje ribonukleinsko kislino (RNK) in ima enojno vijačnico. Virus nima lipidne ovojnice. Prenos virusa je fekalno-oralna pot (4, 13). V literaturi je opisana možnost prenosa s krvjo v primeru odvzema krvi dajalcu v obdobju viremije (4, 13–15). Parenteralno povzročen prenos je opisan pri hemofilijah, ki so dobili visoko prečiščen faktor VIII, obdelan z detergenti (4, 14–16). Ker virus nima lipidne ovojnice, ga detergenti ne uničijo. Zato v predelavi zdravil iz krvi, npr. albumina, imunoglobulinov, faktorjev strjevanja VIII in IX, učinkovito onesposobitev virusa dosežejo s toplotno obdelavo pri 80 stopinjah Celzija v 72 urah (15).

Kljub omenjenim primerom možnih posameznih okužb testiranje krvodajalcev na virus hepatitisa A v svetu ni bilo uvedeno. Bolezen pri ljudeh ne povzroča trajne okužbe in ne vodi do kroničnega hepatitisa ali hepatocelularnega karcinoma. Pri 0,5% bolnikov se lahko razvije fulminantni hepatitis oziroma akutna nekroza jeter, ki se lahko konča s smrtjo (13).

Okužba s hepatitisom A se pojavlja v zgodnjem otroštvu v Afriki, Aziji in Centralni Ameriki, medtem ko se v Evropi okužbe pojavljajo v kasnejšem obdobju (13). Protitelesa proti hepatitisu A običajno vztrajajo vse življenje.

Namen

Po uvedbi vprašalnika smo želeli ugotoviti, koliko krvodajalcev z anamnezo zlatenice je, sodeč po prisotnosti označevalcev okužbe (anti-HAV in anti-HBc), prebolelo hepatitis A (HA), koliko pa hepatitis B (HB).

Pri krvodajalcih s prebolelim hepatitisom B smo želeli ugotoviti, ali imajo prisotna protitelesa anti-HBs.

Material in metode

Od 43.000 registriranih krvodajalcev v letih 1994 do 2002 jih je 764 na vprašalniku označilo, da so v preteklosti preboleli zlatenico. Vsem, ki so imeli podatek o preboleli zlatenici na vprašalniku, smo ob obveznem testiranju na HBsAg določili še dodatne označevalce hepatitisov A in B.

HBsAg smo testirali z encimsko imunskimi testi 3. generacije, ki jih uporabljamo že od leta 1994. Vsa testiranja krvodajalcev smo od leta 1994 opravljali na napravi BOS (Byomedica Open System), ki omogoča avtomatsko pipetiranje vzorcev, od leta 1998 pa na napravi MiniSwift. HBsAg smo testirali z reagenti ETI-MAK-3 firme DiaSorin in od leta 1998 še z reagenti proizvajalca Ortho, občasno pa tudi z reagenti proizvajalca Abbott na napravi AxSYM.

Vsa dodatna testiranja vzorcev krvodajalcev po uvedbi vprašalnika smo izvajali z reagenti proizvajalca Abbott na napravi AxSYM.

Tako smo pri pozitivni anamnezi določili protitelesa proti hepatitisu A z reagenti HAVAB 2,0 proizvajalca Abbott (reagent vsebuje protitelesa razredov IgG in IgM) ter protitelesa proti hepatitisu B, in sicer protitelesa proti antigenu sredice virusa hepatitisa B razreda IgG (anti-HBc IgG) z reagenti CORE, ter protitelesa proti površinskemu antigenu virusa hepatitisa B (anti-HBs) z reagenti AUSAB proizvajalca Abbott.

V primeru prisotnih protiteles proti hepatitisu B (anti-HBc IgG) smo določili še protitelesa proti antigenu sredice virusa hepatitisa B razreda IgM (anti-HBc IgM) z reagenti CORE M, e antigen virusa hepatitisa B (HBeAg) z reagenti HBe 2,0 ter protitelesa proti e antigenu virusa hepatitisa B (anti-HBe) z reagenti ANTI-HBe 2,0 proizvajalca Abbott.

Rezultati

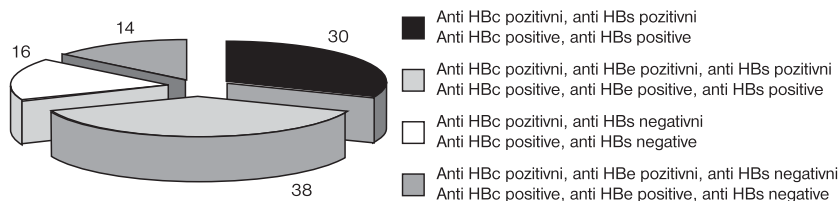
Do 31. 12. 2002 je v vprašalniku 764 krvodajalcev označilo podatek, da so v preteklosti preboleli zlatenico (Razpr. 2). Pri rednem testiranju smo do 31. 12. 2002 med 43.000 krvodajalci odkrili 104 HBsAg pozitivne krvodajalce. Med njimi jih je 9 imelo podatek o preboleli zlatenici. Vse HBsAg pozitivne osebe smo izključili iz študije.

Razpr. 2. *Krvodajalci, ki so preboleli zlatenico (764 od 43.000).*

Table 2. *Donors that got over jaundice (764 from total 43,000).*

	Število Number	Odstotek testiranih krvodajalcev Tested donor percentage	Odstotek vseh krvodajalcev All donor percentage
S protitelesi proti HA (anti-HAV IgG) Positive for hepatitis A antibodies	568	74	1,32
S protitelesi proti HB (anti-HBc IgG) Positive for hepatitis B antibodies	12	2	0,03
S protitelesi proti HA in HB Positive for both hepatitis A and B	86	11	0,20
Brez protiteles proti HA ali HB Without any antibodies	98	13	0,23
Vsi krvodajalci z zlatenico All donors with jaundice	764	100	1,78

Iz razpredelnice 2 je razvidno, da je 764 (1,78%) od 43.000 testiranih krvodajalcev prebolelo zlatenico. Pri teh smo dokazali protitelesa pri 666 (87,2%), medtem ko jih 98 (12,8%) ni imelo protiteles niti proti hepatitisu A niti proti hepatitisu B.



Sl. 1. *Delež krvodajalcev, ki kljub preboleli zlatenici niso imeli anti-HBs protiteles.*

Figure 1. *Donor with no anti-HB antibodies (despite jaundice) percentage.*

12 (2%) krvodajalcev je prebolelo samo hepatitis B, 568 (74%) jih je prebolelo samo hepatitis A. 86 (11%) krvodajalcev je imelo protitelesa proti hepatitisu A in hepatitisu B.

Iz slike 1 je razvidno, da je 98 krvodajalcev s protitelesi proti hepatitisu B imelo protitelesa IgG anti-HBc. Med njimi je 30 (31%) krvodajalcev anti-HBc IgG pozitivnih, anti-HBs pozitivnih, 38 (39%) anti-HBc pozitivnih, anti-HBe pozitivnih, anti-HBs pozitivnih in 14 (14%) anti-HBc pozitivnih, anti-HBs negativnih, 16 (16%) anti-HBc pozitivnih, anti-HBe pozitivnih, anti-HBs negativnih.

Razpravljanje

V Sloveniji po Navodilih za delo v transfuzijski dejavnosti Zavoda Republike Slovenije za transfuzijsko medicino odklonimo krvodajalce po preboleli zlatenici ali hepatitisu za obdobje 5 let. Po priporočilih Sveta Evrope so posamezniki, ki so imeli zlatenico ali hepatitis, lahko po odločitvi pristojne zdravstvene oblasti sprejeti kot dajalci krvi pod pogojem, da je priznani test za HBsAg negativen. Trajno odklonimo nosilce HBsAg. Osebe, ki so bile v tesnem hišnem stiku z obolelim za virusnim hepatitisom (akutnim ali kroničnim), zavrnemo za 12 mesecev od časa stika, razen če so imuni. Bolniško osebe, ki prihaja v stik z bolniki, ki imajo hepatitis, so po presoji odgovornega zdravnika v enoti za zbiranje krvi sprejeti za dajalce, če niso utrpeli vbodne poškodbe ali sluzničnega stika s kužnino. V takem primeru jih odklonimo za 12 mesecev.

Razlogi za začasno odklonitev za obdobje 12 mesecev ali ob uporabi ustreznih testov odkrivanja nukleinskih kislin (NAT) na HCV za obdobje 6 mesecev so še endoskopija z biopsijo ob uporabi gibljivih instrumentov, poškodba ob inokulaciji, akupunktura, tetoviranje ali prebadanje ušes (1).

Kljub upoštevanju navedenih priporočil za izbiro krvodajalcev v Sloveniji letno po transfuzijskih ustanovah odkrijemo 50 nosilcev HBsAg, kar pomeni 0,050% vseh odvzetih enot (2). V Mariboru smo na osnovi zakonsko obveznega testiranja med 43.000 krvodajalci do leta 2002 odkrili in odklonili 104 (0,24%) HBsAg pozitivne krvodajalce.

Z dodatnim testiranjem 764 krvodajalcev z anamnezo zlatenice na anti-HBc in anti-HBs smo odkrili 30 (0,069%) krvodajalcev brez ustreznih zaščitnih protiteles. Vse te krvodajalce smo odklonili kot dajalce.

V retrospektivni študiji oseb s potransfuzijskim hepatitisom v Veliki Britaniji je Allain s sodelavci odkril 2 prenosa hepatitisa B. Kasnejše testiranje je pokazalo, da so krvodajalci bili anti-HBc pozitivni, nihče od dajalcev pa ni imel prisotne nukleinske kisline HBV DNK. Zato je Allain s sodelavci mnenja, da je testiranje na anti-HBc ustrežnejše od določanja HBV DNK za preprečitev prenosa hepatitisa B (17). Nekateri kronični nosilci s pozitivnimi označevalci anti-HBc in anti-HBe imajo zelo nizko raven HBV DNK. Pri takih osebah se HBV DNK lahko odkrije le v nerazredčenih vzorcih (18, 19). Po podatkih Rdečega križa iz Nemčije je večina HBsAg negativnih HBV DNK pozitivnih dajalcev imela prisotna anti-HBc protitelesa. Stroški testiranja s tehnikami odkrivanja nukleinskih kislin

(NAT) so zelo visoki in izračunana cena za preprečitev 1 prenosa okužbe s krvjo znaša 1,3 milijona evrov (12).

Uvedba dodatnega testiranja na anti-HBc v Sloveniji bi povečala varnost krvi. Upoštevati bi bilo koristno vsaj podatek o preboleli zlatenici in vsem z anamnezo zlatenice določiti še anti-HBc in po potrebi dodatne označevalce hepatitisa B. Stroški in izguba dajalcev v primeru, če bi upoštevali le podatek o preboleli zlatenici, bi bili bistveno nižji, kot če bi testirali dodatno vse krvodajalce na anti-HBc ali morda uvedli testiranje z odkrivanjem nukleinskih kislin (NAT) tudi za hepatitis B.

Na osnovi anamneze o preboleli zlatenici smo ugotovili, da je med 43.000 krvodajalci 654 (1,52%) oseb imelo protitelesa proti hepatitisu A.

Odstotek krvodajalcev s protitelesi proti hepatitisu A je zelo majhen v primerjavi s podatki iz literature. Tuji viri nam kažejo, da ima 4–90% oseb prisotna protitelesa proti hepatitisu A (13, 20, 21).

V Sloveniji je med krvodajalci ugotovljenih 55,3% oseb s protitelesi proti hepatitisu A (dr. Snežna Levičnik, ZTM Ljubljana, osebno sporočilo).

Med 2134 bolniki v SB Maribor smo v triletnem obdobju od 1996 do 1998 odkrili 1302 osebi s protitelesi proti hepatitisu A, kar je 62% (20).

Tudi v Avstriji so v študiji ugotavljali 7% nosilcev protiteles proti hepatitisu A med mlajšimi od 30 let, 87% nosilcev pa je bilo v starostni skupini nad 50 let (21). Na osnovi naših rezultatov lahko sklepamo, da anamneza ni zadosten podatek, na osnovi katerega bi lahko ugotovili, koliko oseb je dejansko prebolelo hepatitis A.

Zaključki

Transfuzija krvi je varen postopek, ki ima zelo redko neželene posledice. Tako med možne potransfuzijske zaplete spada tudi prenos virusnih hepatitisov. Pri preprečevanju neželenih posledic imajo pomembno vlogo izbira varnih krvodajalcev, uvedba vprašalnika o zdravstvenem stanju krvodajalca in izključitev oseb s tveganim vedenjem, zlasti pa še ustrezno testiranje krvi na označevalce okužb.

Z dodatnim testiranjem krvodajalcev z anamnezo zlatenice v preteklosti na anti-HBc in anti-HBs smo odkrili 30 krvodajalcev (0,069%), ki so imeli anti-HBc protitelesa, ne pa protiteles anti-HBs.

Testiranje krvi na označevalce hepatitisa A ni pokazalo stvarne slike o prekuženosti v naši populaciji. Iz tega lahko sklepamo, da tudi okužba s hepatitisom A poteka v skriti obliki.

Na koncu naj poudarim, da ima pomembno vlogo pri preprečevanju okužb s krvjo upoštevanje indikacij za zdravljenje s krvjo in njenimi pripravki, izogibanje nepotrebnim transfuzijam ter uvedba nadzora nad porabo krvnih komponent s strani transfuzijskih odborov (1, 2, 22).

Literatura

1. Svet Evrope. Izbira dajalcev. Priporočila o pripravi, uporabi in zagotavljanju kakovosti komponent krvi. 9. izdaja. Ljubljana: Zavod RS za transfuzijsko medicino, 2003: 29–49.
2. Levičnik-Stezinar S, Baraga L, Hrašovec V, Kavaš E, Kramar I, Slokan M, Urlep-Šalinovič V, Šunjevarič M. Presejalno testiranje kot ukrep za zagotavljanje varne transfuzije. *Zdrav Var* 1998; 37: 527–30.
3. Majcen-Vivod B, Urlep-Šalinovič V, Jelatancev B. Prenos hepatitisov B in C s krvjo v triletnem obdobju od 1996 do 1998. *Med Razgl* 2000; 39: Suppl 5: 3–8.
4. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 10th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997: 510–25.
5. Kann M, Gerlich WH. Hepatitis B. In: Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 9th ed. Volume 1, Virology. Avon: Bath Press, 1998: 745–73.
6. Van der Poel CL. Screening for the hepatitis viruses. In: Barbara JAJ, Sultsman MK, Rossi U. Proceedings of the ESTM residential course. Pärnu: ESTM, 1998: 7–31.
7. Walker RH ed. Technical manual of American Association of Blood Banks. 12th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1996: 564–6.
8. Krusius T. Blood donor screening for anti-HBc to prevent transfusion transmitted infection. In: Barbara JAJ, Sultsman MK, Rossi U. Proceedings of the ESTM residential course. Pärnu: ESTM, 1998: 55–61.
9. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996; 334: 1685–90.
10. Murphy EL, Busch MP, Tong M, Cornett P, Vyas GN. A prospective study of the risk of transfusion-acquired viral infections. *Transf Med* 1998; 8: 173–8.
11. Barbara JAJ. Introduction: range of agents and their properties. In: Barbara JAJ, Sultsman MK, Rossi U. Proceedings of the ESTM residential course. Pärnu: ESTM, 1998: 1–3.
12. Erhard S, Roth WK. Feasibility, efficacy and economy of NAT testing in Germany. In: Plenary state of the art book. VIII European Congress of the International Society of Blood Transfusion. Istanbul: International Society of Blood Transfusion, 2003: 27–8.
13. Robertson HB, Lemon SM. Hepatitis A and E. In: Collier L, Balows A, Sussman M. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 9th ed. Vol. 1 Virology. Avon: Bath Press, 1998: 693–716.
14. Evarus H. Clinical importance of blood safety. In: Barbara JAJ, Sultsman MK, Rossi U. Proceedings of ESTM residential course. Pärnu: ESTM, 1998: 11–21.
15. Mannucci PM, Gdovin S, Gringeri A, Colombo M, Mele S. Transmission of hepatitis A to patients with haemophilia by factor VIII concentrate treated with organic solvent and detergent to inactivate viruses. *Ann Intern Med* 1994; 120: 1–7.
16. Parkkinen J. Viral inactivation procedures of plasma products. In: Barbara JAJ, Sultsman MK, Rossi U. Proceedings of the ESTM residential course. Pärnu: ESTM, 1998: 187–91.
17. Allain JP, Hewitt PE, Tedder RS, Williamson LM. Evidence that anti-HBc but not HBV DNA testing may prevent some HBV transmission by transfusion. *Br J Hematol* 1999; 107: 186–95.
18. Sato S, Ohhashi W, Ihara H, Sakaya S, Kato T, Ikeda H. Comparison of the sensitivity of NAT using pooled donor samples for HBV and that of a serologic HBsAg assay. *Transf Med* 2001; 41: 1107–13.
19. Hiroshi Y et al. Frequent presence of HBV in the sera of HBsAg negative, anti-HBc positive blood donors. *Transf Med* 2001; 41: 1093–9.
20. Majcen-Vivod B. Spremljanje prenosa hepatitisov A, B in C s krvjo v SB Maribor v triletnem obdobju od 1996–1998. Specialistična naloga. Maribor: Splošna bolnišnica, 2000: 28–39.
21. Prodinger WM, Larcher C, Solder BM, Geissler D, Dierich MP. Hepatitis A in Western Austria – the epidemiologic situation before the introduction of active immunisation. *Infection* 1994; 22: 53–5.
22. Glaser E. Kri in krvni izdelki skozi lupo zakonskih in drugih predpisov Evropske zveze. *Zdrav Vestn* 1996; 65: 695–7.